

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

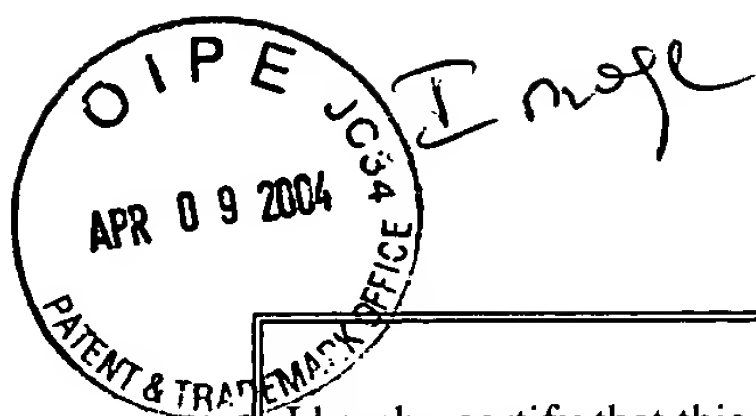
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



1654A

CERTIFICATE OF MAILING

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service with sufficient postage as First Class Mail in an envelope addressed to Mail Stop Amendment, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450, on the date indicated below.


Yvette Alvarez-Perez

April 7, 2004
Date

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Appl. No. : 09/939,532
Applicant : Michael Damm et al.
Filed : August 24, 2001
Title : METHOD FOR THE SYNTHESIS OF PEPTIDE SALTS, THEIR USE
AND THE PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING
PEPTIDE SALTS

TC/A.U. : 1654
Examiner : Gupta, Anish

Docket No. : 103832-401-NP

Mail Stop Amendment
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT

Sir:

Applicants submit herewith a certified copy of German Patent Application No. 100 40 700.5 filed on August 17, 2000, of which Applicants claim priority for the above-referenced application.

The Commissioner is authorized to charge any required fees to Goodwin Procter LLP Deposit Account No. 06-0923.

Respectfully submitted for Applicants,



Eva Tan (Reg. No. 46,406)
GOODWIN PROCTER LLP
103 Eisenhower Parkway
Roseland, NJ 07068
(973) 992-1990 Ext. 7904

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 40 700.5

Anmeldetag: 17. August 2000

Anmelder/Inhaber: ASTA Medica Aktiengesellschaft, Dresden/DE

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung von Peptidsalzen,
deren Verwendung und die Peptidsalze ent-
haltende pharmazeutische Zubereitungen

IPC: C 07 K und A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. Juli 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Jerofsky

Verfahren zur Herstellung von Peptidsalzen, deren Verwendung und die Peptidsalze enthaltende pharmazeutische Zubereitungen

Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von Peptidsalzen, insbesondere von schwerlöslichen Peptidsalzen, und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Weiterhin betrifft die Erfindung pharmazeutische Zubereitungen, die mindestens ein erfindungsgemäß hergestelltes Peptidsalz enthalten, sowie deren Herstellung.

10 In der internationalen Patentanmeldung Nr. PCT/EP94/03904 ist die Herstellung eines schwerlöslichen Peptides durch Umsetzung von einer wäßrigen Lösung des Säuresalzes mit einer essigsauen Lösung des basischen Peptids unter Ausfällung des schwerlöslichen Säureadditionssalzes des Peptids beschrieben. Beispielsweise wird die Herstellung des LHRH Antagonisten Cetrorelix Embonat
15 beschrieben.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein neues Verfahren zur Herstellung von Peptidsalzen, dadurch gekennzeichnet, daß ein Säureadditionssalz eines basischen Peptids (Ausgangs-peptidsalz) (1) in Gegenwart eines geeigneten
20 Verdünnungsmittels mit einem Mischbettionenaustauscher oder einem Gemisch von einem sauren und basischen Ionenaustauscher unter Bildung des freien basischen Peptids umgesetzt, anschließend der Ionenaustauscher abgetrennt und dann das freie basische Peptid mit einer anorganischen oder organischen Säure unter Bildung des gewünschten Säureadditionssalzes des Peptids (Endpeptidsalz)
25 (2) umgesetzt und anschließend das Verdünnungsmittel entfernt wird.

Der Ausdruck „basisches Peptid“ bedeutet hier Poly(Aminosäuren), auch im Sinne einer Teilstruktur innerhalb einer größeren Gesamtstruktur, welche basische Aminosäuren, wie Arginin, Pyridylalanin oder Lysin, oder einen N-Terminus eines
30 Peptides oder einfach mindestens eine basischen Gruppe aufweisen.

Bevorzugte Peptide sind die LHRH-Antagonisten Antide, A-75998, Ganirelix, Nal-Glu-Antagonist, Cetrorelix, Teverelix (Antarelix ®) sowie die Antagonisten gemäß den Patenten US 5,942,493 und DE 19911771.3, deren Inhalt hiermit durch Referenz aufgenommen wird. Weitere Peptide sind Abarelix, Azaline B, Detirelix, 5 Ramorelix (Stoeckemann and Sandow, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1993, 119, 457) und RS-68439. Die Strukturen der genannten Peptide finden sich in: Behre et al., *GnRH antagonists: an overview*, Proceedings of the 2nd World Conference on Ovulation Induction, The Parthenon Publishing Group Ltd.; Kutscher et al., Angew. Chem. 1997, 109, 2240.

10

Bei den als Edukte eingesetzten Säureadditionssalze der Peptide handelt es sich vorzugsweise um leichtlösliche Salze wie die Acetate, Hydrochloride, Sulfate.

15

20

Gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren wird das Ausgangspeptidsalz in einem Verdünnungsmittel ganz oder teilweise gelöst oder darin suspendiert. Anschließend wird ein Verdünnungsmittel zugegeben. Lösungs- und Verdünnungsmittel können gleich oder verschieden sein. Als Lösungs- bzw. Verdünnungsmittel kommen beispielsweise in Frage: Wasser, Ethanol, Methanol, Propanol, Isopropanol, Butanol, Aceton, Dimethylketon, Methylethylketon, Dimethylacetamid, Dimethylformamid, N-Methylpyrrolidon, Acetonitril, Pentan, Hexan, Heptan und Gemische davon. Bevorzugt sind Ethanol, Isopropanol oder Acteon. Zu bevorzugen ist ebenfalls ein Wassergehalt von 1 bis 60 %, vorzugsweise von 5 bis 50%.

25

Zu der Lösung bzw. Suspension des Ausgangspeptidsalzes wird der Mischbettionenaustauscher, also ein Gemisch von einem sauren und einem basischen Ionenaustauscher gegeben. Als Ionenaustauscher kommt beispielsweise Amberlite ® in Frage.

30

Die Menge an Ionenaustauscher richtet sich nach der Anzahl der basischen Gruppen pro Peptid. Die Menge wird durch Zugabe bis Erhalt eines konstanten

ph-Wertes ermittelt. Beispielsweise werden für 1g Cetrorelix 10g Amberlite MB-3 benötigt.

Die pH-Werte der Basenlösungen bei der Basenherstellung stellt sich je nach
5 eingesetztem Wirkstoff-Salzes, insbesondere bei Peptidsalze mit basisch reagierenden Aminosäuren insbesondere jedoch bei Salzen von LHRH-Antagonisten (beispielsweise Cetrorelix, D-63153, Abarelix, Ganirelix, Ramorelix welche beispielsweise als Acetat vorliegen können), je nach verwendetem Wirkstoff, auf 7,5 bis 13 ein.

10

Die Temperatur sollte 25-30 °C nicht übersteigen, um einen Abbau des Peptids zu vermeiden. Die Reaktionszeit für die Herstellung der freien Base erfolgt üblicherweise innerhalb von wenigen Minuten, beispielsweise 20 min ausgehend von Cetrorelixacetat. Sie kann auch länger sein, beispielsweise etwa 1 h
15 ausgehend von Cetrorelixembonat. Nach Erreichen eines konstanten pH-Wertes sollte die Reaktion abgebrochen werden da sich beispielsweise Zersetzungsprodukte aufgrund der Basizität der Lösungen bilden können.

20

Anschließend wird der Ionenaustauscher von der Reaktionsmischung entfernt. Die Entfernung kann durch Absieben, Abfiltrieren, Abzentrifugieren oder
Säulenfiltration geschehen.

25

Die klare bis trübe Lösung der freien Peptidbase, welche instabil ist, sollte möglichst rasch mit der Säure unter Bildung des gewünschten
Säureadditionssalzes umgesetzt werden. Die Zugabe der Säure kann als
Festsubstanz oder in Lösung bzw. als Suspension erfolgen. Genauso kann die
Lösung der freien Peptidbase zur Säure erfolgen.

30

Die Reaktionszeiten liegen im Bereich von einigen Minuten bis einigen Stunden. Beispielsweise für die Bildung von Cetrorelix-Embonat beträgt die Reaktionszeit 1,5 h.

Anschließend wird die Reaktionslösung, die üblicherweise klar ist, sterilfiltriert. Anschließend kann das Lösungsmittel entfernt werden unter Erhalt des reinen Peptidsalzes. Alternativ können vor dem Entfernen des Lösungsmittels Hilfs-, Zusatz- oder Trägerstoffe der Lösung zugesetzt werden. Die Zugabe der
5 Hilfsstoffe kann als Feststoff vor der Sterilfiltration oder nach der Sterilfiltration als als sterilfiltrierte Lösung erfolgen.

Geeignete Hilfsstoffe sind beispielsweise Mannitol, Sorbitol, Xylit, lösliche Stärke.

10 Erfindungsgemäß können folgende Salze durch Zugabe der entsprechenden Säure hergestellt werden: Acetat, Adipat, Ascorbat, Alginat, Benzoat, Benzolsulfonat, Bromid, Carbonat, Citrat, Chlorid, Dibutylphosphat, Dihydrogencitrat, Dioctylphosphat, Dihexadecylphosphat, Fumarat, Gluconat, Glucuronat, Glutamat, Hydrogencarbonat, Hydrogentartrat, Hydrochlorid,
15 Hydrogencitrat, Jodid, Lactat, alpha-Liponsäure, Malat, Maleat, Malonat, Pamoat (Embonat), Palmitat, Phosphat, Salicylat, Stearat, Succinat, Sulphat, Tartrat, Tannate, Oleat, Octylphosphat

Die Erfindung wird an dem nachstehenden Beispiel erläutert, ohne darauf
20 beschränkt zu sein.

Beispiel 1:

25 46,47 g D-20761 wurden portionsweise zu 1193 g Wasser gegeben und unter Rühren gelöst. (= Lösung 1). Lösung 1 wurde anschließend unter Rühren mit 3261 g 96 % Ethanol verdünnt. (= Lösung 2). Lösung 2 wurde nach dem Verdünnen über einen Glasfaservorfilter filtriert und das Filtrat mit 390 g Amberlite MB3 (Mischbettionenaustauscher aus stark sauren Kationen und
30 Anionenaustauschern) unter Rühren versetzt (= Mischung 1).
316,8 g Mannit wurde in 1267 g Wasser unter Rühren gelöst.(=Lösung 3).

Nach 15 min. Rühren, wurde der pH-Wert der überstehenden Lösung von Mischung 1 gemessen, und nach weiteren 5 minütigem Rühren wurde nochmals der pH-Wert gemessen. Die Lösung wurde anschließend nach erreichtem pH-Wert von 12,5 über ein feinmaschiges Sieb vom Amberlite MB3 abgetrennt. (= Lösung 4).

4162 g der Lösung 4 wurde mit 5,34 g Embonsäure unter Rühren versetzt. Diese Mischung wurde weitere 1,5 h kräftig gerührt und die etwas trübe Lösung anschließend über ein Glasfaservorfilter filtriert. Bei dieser Lösung wurde ein pH-Wert von 8,4 (= Lösung 5). Die gemessenen pH-Werte wurden mit einer Schliffelektrode gemessen mit einer viskosen Elektrolytflüssigkeit. Die pH-Werte waren nur als Relativwerte zu sehen, da die gemessenen Lösungen bzw. Suspensionen Ethanol enthalten und somit einen scheinbar höheren Werte anzeigten.

3333 g der Lösung 5 wurden in die auf RT temperierte Reaktionsapparatur sterilfiltriert und 528 g der Lösung 3 zu der auf RT temperierten Lösung 5 unter Rühren sterilfiltriert. (= Lösung 6).

Lösung 6 wurde auf 40 °C erwärmt und anschließend das Ethanol / Wassergemisch bis auf ≤ 1931 g i.Vak. abdestilliert. (= Suspension 1). Die Cetorelix-Embonat-Suspension 1 wurde auf RT abgekühlt und mit sterilfiltriertem Wasser für Injektionszwecke ad 3000 g unter Rühren verdünnt. (= Suspension 2). Die fertige, auf RT temperierte Suspension 2 wurde anschließend zu je 3,0 g in 10 ml Injektionsflaschen abgefüllt, mit Gefriertrocknungsstopfen versehen und in die Gefriertrocknungsanlage überführt.

Die Injektionsflaschen wurden bei einer Plattentemperatur von -40° C in einer Gefriertrocknungsanlage eingefroren. Die Trocknung erfolgte mittels eines Trocknungsprogramms bei einer Plattentemperatur von -40° C auf 20° C steigend. Die GT-Anlage mit wurde mit sterilfiltriertem Stickstoff geflutet, die Injektionsflaschen in der Anlage verschlossen und anschließend die Bördelkappen aufgesetzt und rolliert.

Nach der Gefriertrocknung wurden die verschlossenen Injektionsflaschen bei 12 kGy (min) - 15 kGy gamma-strahlensterilisiert. Letzteres ist optional.

1 Injektionsflasche zu 140,0(7) mg enthält 34,07 mg Cetrorelix-Embonat
entsprechend 30 mg Cetrorelix.

und 106 mg Mannitol. Zur Rekonstitution werden 2 ml Wasser für

- 5 Injektionszwecke verwendet. Die erhaltene Suspension kann per i.m. oder s.c.
Gabe verabreicht werden.

Biologische Wirkung:

10 Das gemäß Beispiel 1 erhaltene Cetrorelix Embonat (2:1) Lyophilisat (30 mg) wird
in 2 ml Wasser für Injektionszwecke resuspendiert und kann dann parenteral,
vorzugsweise subkutan (s.c.) oder intramuskulär (i.m.) verabreicht werden.

- 15 Bei s.c. Verabreichung findet man für das Cetrorelix Embonat (2:1) eine
Bioverfügbarkeit von ca. 30-50 % (100% = intravenös verabreichtes
Cetrolixacetat). Ein besonderer Vorteil von Cetrorelix Embonat (2:1) Lyophilisat ist
der geringe bzw. kein sog. Burst-Effekt beim Patienten. Die Wirkungsdauer ist
dosisabhängig und liegt bei einer Dosis von 30-150mg bei 2-8 Wochen oder
20 länger. Das erfindungsgemäße Cetrorelix-Embonat (2:1) Lyophilisat ist bereits in
Klinikphase I am Menschen untersucht worden.

- Fig. 1 zeigt Den Verlauf der Cetrorelix-Plasmakonzentration in Abhängigkeit von
der Zeit (in Stunden) beginnend ab der i.m. Gabe von 60 mg Cetrorelix-Embonat
25 (2:1)-Lyophilisat gemäß Beispiel 1 beim Menschen. Kein Burst-Effekt (ca.
100ng/ml) feststellbar. Wirkungsdauer mehr als 700 Stunden. Ab 150 h nach
Verabreichung konstanter Plasmaspiegel von ca. 2 ng/ml. Die Bioverfügbarkeit lag
bei ca. 40 %.

- 30 Die Anwendungsgebiete der erfindungsgemäßen Peptidsalze sind beispielsweise
BPH, Myoma und Endometriose.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Peptidsalzen, dadurch gekennzeichnet, daß ein
Säureadditionssalz eines basischen Peptids (Ausgangs-peptidsalz) (1) in
5 Gegenwart eines geeigneten Verdünnungsmittels mit einem
Mischbettionenaustauscher oder einem Gemisch von einem sauren und
basischen Ionenaustauscher unter Bildung des freien basischen Peptids
umgesetzt, anschließend der Ionenaustauscher abgetrennt und dann das freie
basische Peptid mit einer anorganischen oder organischen Säure unter
10 Bildung des gewünschten Säureadditionssalzes des Peptids (Endpeptidsalz)
(2) umgesetzt und anschließend das Verdünnungsmittel entfernt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Salz von
Cetrorelix, Teverelix, Abarelix, Ganirelix, Azaline B, Antide, A-75998, Detirelix,
15 Ramorelix, RS-68439 als Ausgangs-peptidsalz eingesetzt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Säure
Embonsäure, Stearinsäure, Salicylsäure, ist.
- 20 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß
das Molverhältnis Cetrorelix zu Embonsäure 2 : 1 beträgt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß
das Verdünnungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt wird.
- 25 6. Peptidsalz, erhältlich nach dem Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 bis 5.
7. Lyophilisiertes Peptidsalz, erhältlich nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5.

8. Pharmazeutische Zubereitung, enthaltend das Peptidsalz gemäß den Ansprüchen 6 oder 7, zusammen mit pharmazeutischen Hilfs-, Träger- und/oder Gerüststoffen.

5 9. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutischen Hilfs-, Träger- und/oder Gerüststoffe ganz oder teilweise vor dem Entfernen des Verdünnungsmittels zugesetzt werden.



10 10. Verwendung der Peptidsalze gemäß den Ansprüchen 1 bis 5 zur Herstellung eines Arzneimittels zur parenteralen Applikation bei Säugetieren.



Zusammenfassung

- 5 Die Erfindung betrifft Peptidsalz enthaltende pharmazeutische Zubereitungen, deren Herstellung und deren Verwendung. Insbesondere betrifft die Erfindung pharmazeutische Zubereitungen enthaltend ein schwerlösliches Salz von LHRH Agonisten oder Antagonisten, wie Cetrorelix Embonat, zur parenteralen Applikation bei Säugetieren mit langanhaltender Wirkung.



Fig. 1



Degussa+Kus Gruppe

Biochemistry

D-20762 Cetorelix Pamoate - Clinical PK - Phase I

Study 3197: Median cetorelix plasma concentration-time profile (with quantiles) after 60 mg i.m. administration of CET pamoate-2:1-LYO (n=8) in male subjects

